

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 59-036623

(43)Date of publication of application : 28.02.1984

(51)Int.Cl.

A61K 45/02
// C07J 53/00

(21)Application number : 57-147433

(71)Applicant : ZENYAKU KOGYO KK

(22)Date of filing : 25.08.1982

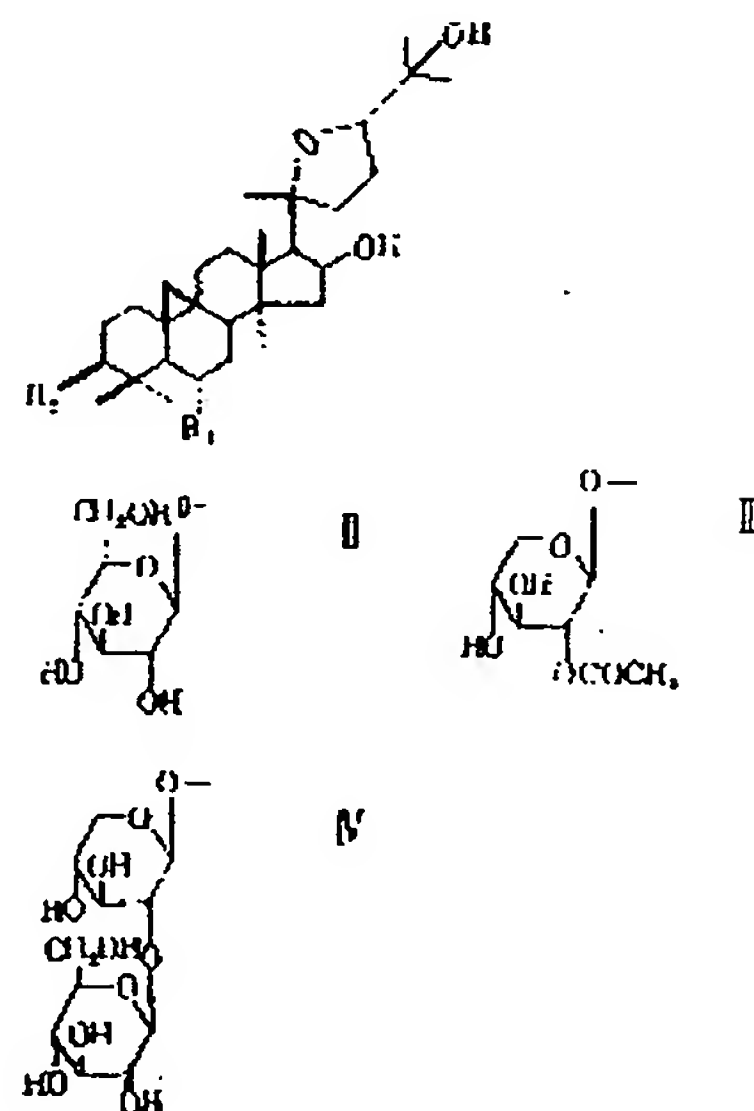
(72)Inventor : SAITO TAMOTSU
ABE SHIGERU
TAKASE MUNEAKI
TAKAYANAGI HIROSHI

(54) INDUCING AGENT FOR INTERFERON

(57)Abstract:

PURPOSE: The titled pharmaceutical, containing a 9,19-cyclolanostane derivative isolated as a component of Astragali Radix as an active constituent, capable of stimulating a host to promote the production of interferon, and useful as an antiviral and anticancer agent.

CONSTITUTION: An inducing agent for interferon containing a compound expressed by formula I (R1 is OH or formula II; R2 is a group expressed by formula II or IV) as an active constituent. The compound expressed by formula I is obtained by extracting Astragali Radix with methanol, etc. under warming, distributing and transferring the resultant extract to another solvent i.e. benzene, etc. to remove impurities, distributing and transferring the resultant substance to another solvent i.e. n-butanol, and subjecting the resultant extract to the silica gel chromatography (chloroform, methanol and water). The compound expressed by formula I has the ability to induce the interferon and can be administered orally or parenterally as a remedy for viral diseases, e.g. hepatitis or herpes, and cancers. The LD50 is 3,000mg/kg or more in mice for the compound expressed by formula I (R1 is formula II; R2 is formula III) by the intraperitoneal or oral route, and the toxicity is very low.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—36623

⑬ Int. Cl.³
A 61 K 45/02
// C 07 J 53/00

識別記号
A B H

庁内整理番号
7043—4C
7043—4C

⑭ 公開 昭和59年(1984)2月28日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑮ インターフェロン誘起剤

⑯ 発明者 高瀬宗章

東京都練馬区大泉町1丁目24番
13号

⑰ 特 願 昭57—147433

⑱ 出 願 昭57(1982)8月25日

⑲ 発明者 齊藤保

大和市つきみ野7丁目13番19号

⑳ 発明者 安部茂

神奈川県津久井郡津久井町中野
1961番地17

㉑ 発明者 高柳博

日野市旭ヶ丘3丁目3番30号

㉒ 出 願 人 全薬工業株式会社

東京都中央区日本橋室町3丁目
1番地

㉓ 代理人 弁理士 山田恒光 外1名

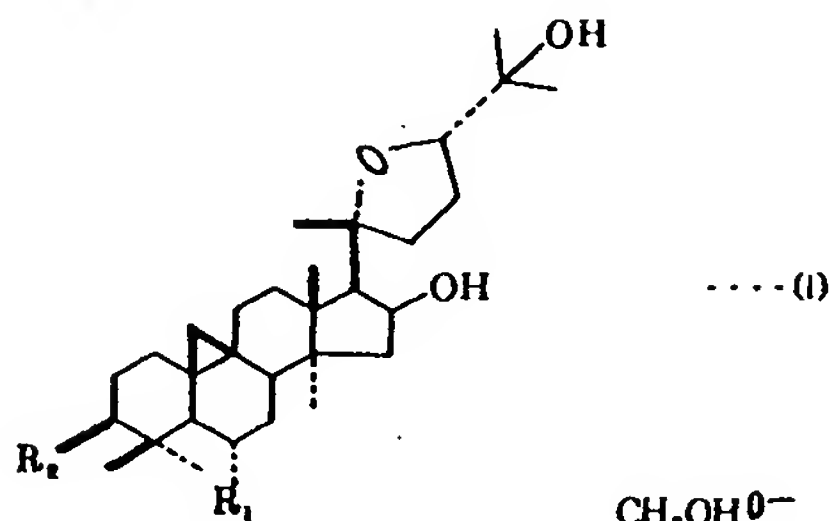
明 細 書

1. 発明の名称

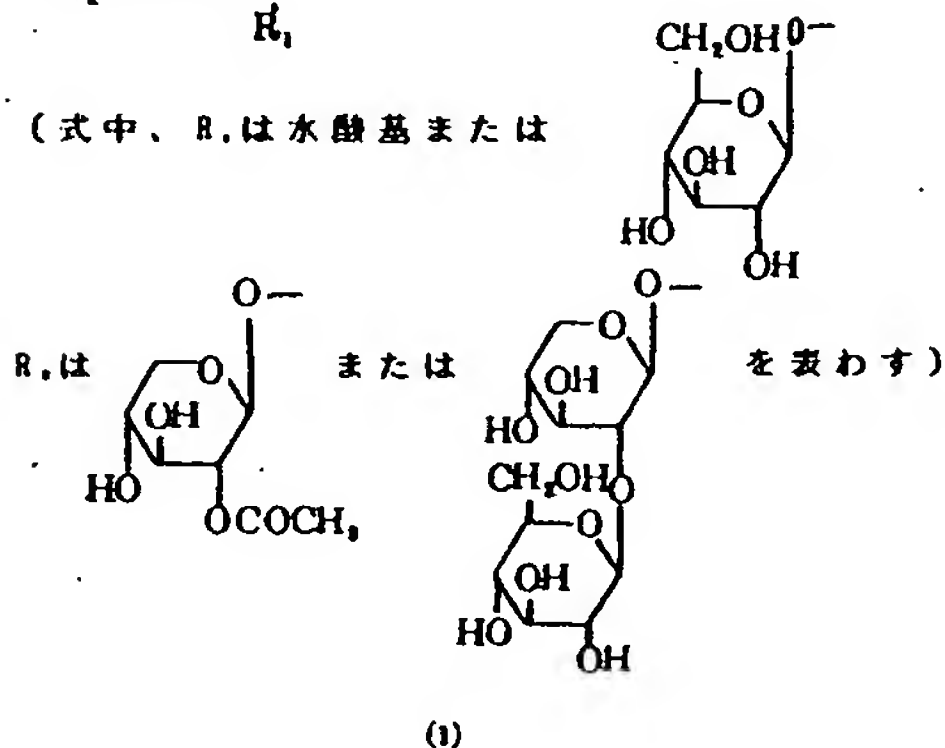
インターフェロン誘起剤

2. 特許請求の範囲

1) 一般式(I):



(式中、R₁は水酸基または

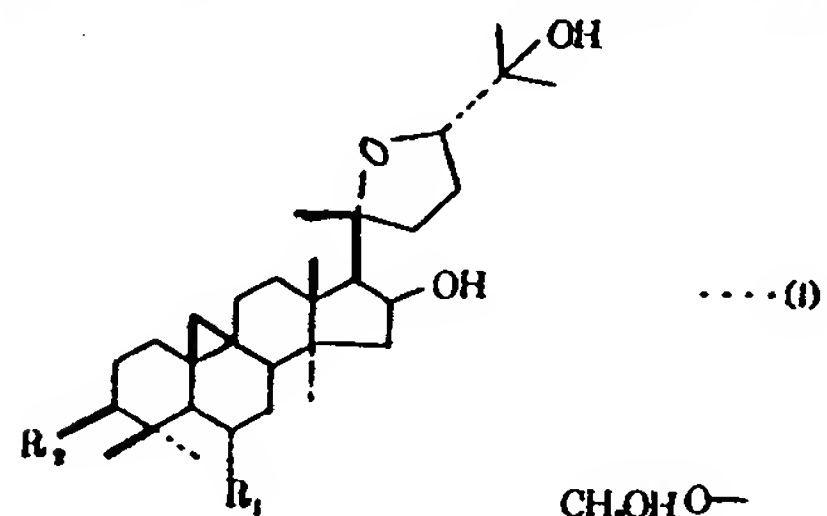


(1)

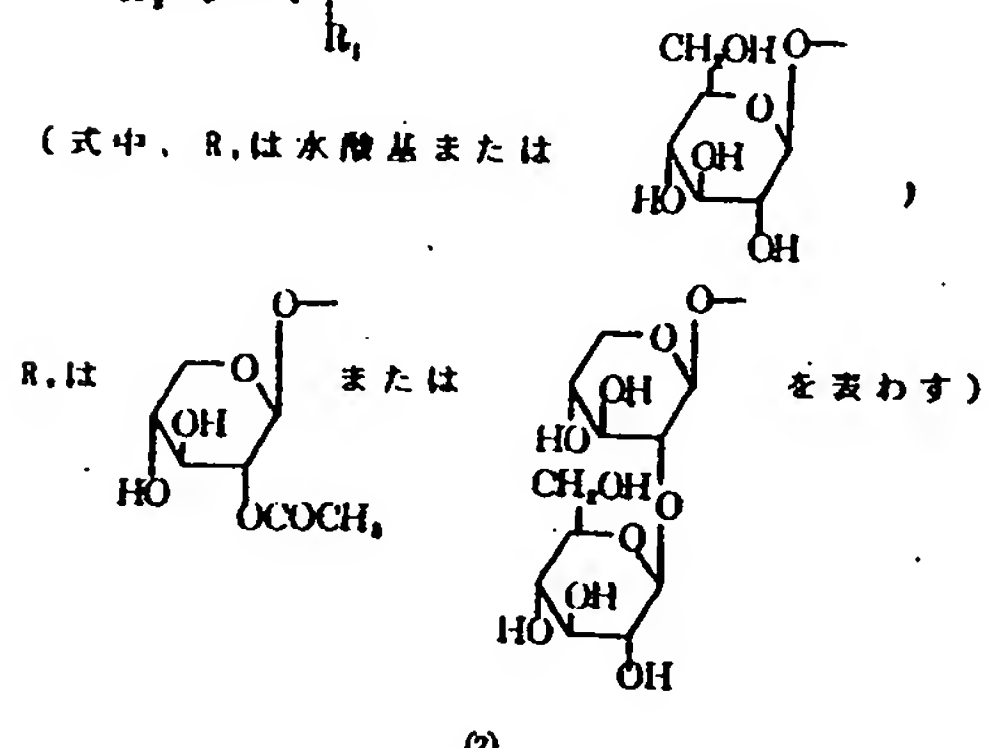
て示される化合物を有効成分として含有する
インターフェロン誘起剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は下記一般式(I)で示される化合物を
含有する新規なインターフェロン誘起剤に関する。



(式中、R₁は水酸基または



(2)

インターフェロン（以下IFNと略す）はウイルスの侵入またはその他の刺激によつて動物の細胞が産生するウイルス増殖抑制因子であり、1957年の発見以来行なわれた数々の研究により抗ウイルス作用および抗腫瘍作用を有する物質としてたいへん注目されている。

IFNは白血球、培養繊維芽細胞、腎臓細胞またはヒラ細胞等の細胞により生産されることが知られているが、工業的生産の観点からは量産化にまだ問題を残している。

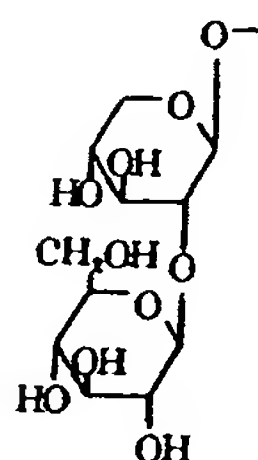
また、宿主を刺激してIFNの産生を促進させるIFN誘起物質の研究が行なわれ、これまでにいくつかの物質で臨床試験においてインフルエンザ、ヘルペス、肝炎等のウイルス性疾患または癌に効果を示すことが報告されているが副作用の点で問題を残しているのが現状である。

かかる状況を鑑み、本発明者らは漢方生薬のメタノールエキスおよびその成分について研究を重ねた結果、一般式(1)で示される化合物にIFN誘起活性を見出し本発明を完成した。

(3)

β -D-グルコピラノシル-9,19-シクロラノスタン

化合物B: $R_1 = -OH$, $R_2 =$



20(R),24(S)-エポキシ-6 α ,16 β ,25-トリヒドロキシ-3 β -O-(β -D-グルコピラノシル(1 \rightarrow 2)- β -D-キシロピラノシル)-9,19-シクロラノスタン

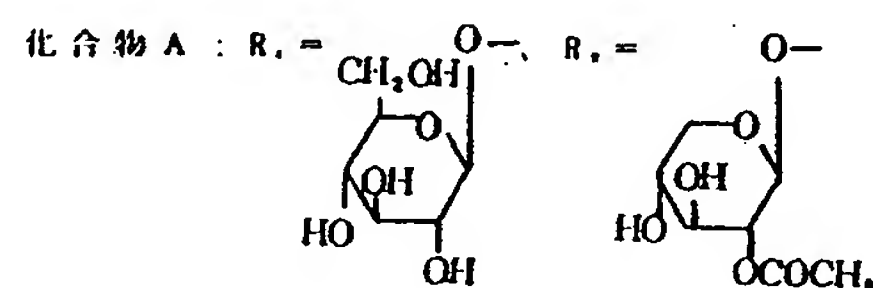
化合物Aおよび化合物Bは黄耆をメタノール、エタノール（いずれも含水であつてもよい）、含水アセトン、水等で加湯抽出し、n-ヘキサン、ベンゼン、四塩化炭素、ジクロロメタン、クロロホルム、酢酸エチル、エーテル等で分配転溶して夾雑物を除去したのち、n-ブタノールにて分配転溶して得たエキスをクロロホルム・メタノール・水混液、n-ブタノール・酢酸エチル・

(5)

当該化合物は預力で補精、強壯、止汗、利尿の要薬として多数の処方箋に採用されている黄耆（オウギ）の成分として本発明者らが単離・確認（日本生薬学会第27年会（1980年）、日本薬学会第101年会（1981年）にて発表）した化合物であり、その生物活性については今まで確認されていなかった。

以下、本発明のインターフェロン誘起剤の製造法およびインターフェロン誘起効果について詳細に説明する。

ただし、下記試験においては一般式(1)の化合物の中で代表的な2種の化合物（化合物Aおよび化合物B）を用いた。



20(R),24(S)-エポキシ-16 β ,25-ジヒドロキシ-3 β -O-(β -D-グルコピラノシル(1 \rightarrow 2)- β -D-キシロピラノシル)-6 α -O-

(4)

水混液等を展開溶媒としてシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付すことにより容易に得られる。

IFN誘起活性はウイルスのRNA合成阻害の程度を指標として、鈴木法（Japan.J.Microbiol. 18(6), 449-456(1974)）にて³H-ウリジンの取り込み量をシンチレーション・カウンターで測定することにより定量した。

マウス（ddY系、雄性、10週令、体重33 \pm 2g、各群5匹）を実験動物として、後記製造例において製造した化合物Aおよび化合物Bを各々生理食塩水にて調整し、30mg/kg腹腔内に投与して8時間、24時間および96時間後にマウス尾切断により採血し、この血液を3000rpmで10分間遠心分離し、採取した血清中のIFN力価を測定した。

IFN力価は採取した上記血清を用いて、マウスLY細胞（マウス皮下脂肪組織由来の繊維芽細胞株）に対する水泡性口内炎ウイルス（VSV:ニュージャージー株）の増殖に伴うRNA合成を

(6)

*B-ウリジンの取り込み量で測定し、取り込みを50%抑制するIFNの稀釈倍数を計算し、IFN力価とした。なお標準品としてはNIH標準IFNを用いた。その結果を国際単位にて下記の表1に示す。

表1 インターフェロン(IFN)力価

	IFN力価 (IU/ml)		
	8時間	24時間	96時間
化合物A	< 10	> 100	< 10
化合物B	< 10	> 100	< 10

化合物Aまたは化合物Bにより誘起されたIFN力価は、いずれも投与後24時間後に高価を示した。

次に、化合物Aおよび化合物Bの投与量とIFN誘起活性との関係について説明する。

マウス(ddY系、雄性、10週令、体重 33 ± 2 g、各群5匹)を実験動物として、後記製造例において製造した化合物Aおよび化合物Bを各々生理食塩水にて調整し、 3 mg/kg 、 30 mg/kg 、

(7)

従つて、化合物Aまたは化合物BによりIFNが誘起されていることは明らかである。

また化合物Aおよび化合物Bの急性毒性(LD₅₀)はマウス(ddY系、雄性、5週令、体重 20 ± 1 g、各群5匹)において腹腔内および経口投与のいずれの場合も 3000 mg/kg 以上であり、毒性は極めて低かつた。

一般式(I)の化合物は経口的あるいは非経口的に投与することができ、経口投与の剤型としては錠剤、コーティング剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤などが、また非経口投与の剤型としては注射剤、坐剤などが使用できる。これらの剤型の調整は薬学的に許容される賦形剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、懸濁剤、乳化剤、防腐剤、安定化剤および分散剤などを適宜用いて行なわれる。投与量は患者の症状、体重などに応じて異なるが成人に対する1日量として $20 \sim 2000 \text{ mg}$ 、好ましくは $100 \sim 500 \text{ mg}$ を1～4回に分けて投与することができる。

以上述べたごとく、化合物Aまたは化合物B

(9)

300 mg/kg 腹腔内に投与して24時間後にマウス尾切断により採血し、以下の記と同様にしてIFN誘起活性を調べた。その結果は国際単位にて下記の表2に示す。

表2 インターフェロン(IFN)誘起活性

	投与量 (mg/kg)	IFN力価 (IU/ml)
化合物A	300	> 100
	30	> 100
	3	< 10
化合物B	300	> 100
	30	> 100
	3	< 10

化合物Aまたは化合物BによるIFN誘起活性は、いずれも 30 mg/kg 以上の投与量により発現された。

さらに、上記試験例において、化合物Aまたは化合物Bによりマウス血清中に誘起されたVSVウイルス感染阻止物質は、 37°C 、3時間のトリプシン処理により失活することが確認された。

(8)

に代表される一般式(I)の化合物はIFN誘起剤として有用であり、ウイルス性疾患並びに癌の治療剤として単独または併用して用いることのできるものである。

以下に製造例を掲げて具体的に説明すると共に製剤例についてその代表的組成を例示する。

製造例

細切した市販の黄耆(オウギ、韓国産)

1kgを3ℓのメタノール中に浸し 70°C で3時間抽出した。抽出液は同様の方法で4回抽出を繰返し、抽出液をまとめて減圧下ろ過を留去し、抽出物150gを得た。この抽出物全量を3ℓの50%含水メタノールに溶解し、まずn-ヘキサン3ℓ、次いでクロロホルム3ℓを用いてそれぞれ4回分配転漙させ、転漙物を除去した。残った含水メタノール液層より減圧下でメタノールを留去し、残液にn-ブタノール1.5ℓを加えて分配転漙させ、同様の操作を4回繰り返した。転漙に用いたn-ブタノールをまとめ、減圧下で溶媒を留去して抽

(10)

出エキス50gを得た。

このエキス20gをクロロホルム・メタノール・水の混合溶媒（クロロホルム：メタノール：水＝7：1：0.5の割合（容量比）で混合し一昼夜静置後の下層）を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、溶出開始後12～14ℓの画分を分取し、乾燥後減圧下で溶媒を留去して化合物A 0.6gを得た。また、溶出開始後18～20ℓの画分を分取し、乾燥後減圧下で溶媒を留去して化合物B 0.4gを得た。得られた化合物の融点、赤外吸収スペクトルは下記のとおりであつた。

化合物A 融点：268～271℃
 赤外吸収スペクトル（ cm^{-1} ）
 $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ ：3400(br.)、1739

化合物B 融点：216～220℃
 赤外吸収スペクトル（ cm^{-1} ）
 $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ ：3350(br.)

製剤例

(1)錠剤

(11)

化合物A	100mg
マンニトール	35mg
微結晶セルロース	26mg
コロイダルシリカ	13mg
タルク	12mg
ポリビニルピロリドン	10mg
ステアリン酸マグネシウム	4mg

(2)顆粒剤

化合物B	100mg
デンプン	30mg
乳糖	32mg
結晶セルロース	42mg
ポリビニルアルコール	6mg

(3)注射剤

化合物A	100mg
生理食塩水	100ml

特許出願人 全薬工業株式会社

特許出願人代理人 山田恒

特許出願人代理人 大塚誠

(12)

